



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



⑪ Veröffentlichungsnummer: 0 409 227 A2

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑬ Anmeldenummer: 90113851.1

⑭ Int. Cl. 5: C07H 19/04, A61K 31/70

⑮ Anmeldetag: 19.07.90

⑯ Priorität: 20.07.89 DD 331051

⑯ Anmelder: Akademie der Wissenschaften der
DDR
Otto-Nuschke-Strasse 22/23
DDR-1088 Berlin(DD)

⑰ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
23.01.91 Patentblatt 91/04

⑰ Erfinder: Matthes, Eckart, Dr.
Karower Chaussee 129
DDR-1115 Berlin(DE)
Erfinder: Von Janta-Lipinski, Martin, Dr.
Mittelweg 75
DDR-1185 Berlin(DE)
Erfinder: Reimer, Karen, Dr.
Leipziger Strasse 40
DDR-1080 Berlin(DE)
Erfinder: Müller, Werner, Prof. Dr.
Semmelweisstrasse 12
D-6200 Wiesbaden(DE)
Erfinder: Melsel, Helga, Dr.
Strasse 53 Nr. 5a
DDR-1113 Berlin(DE)
Erfinder: Lehmann, Christine
Walter-Friedrich-Strasse 5
DDR-1115 Berlin(DE)
Erfinder: Schildt, Jürgen
Demminer Strasse 11c
DDR-1090 Berlin(DE)

⑱ Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑲ Vertreter: Patentanwälte Beetz sen. - Beetz
jun. Timpe - Siegfried - Schmitt-Fumlan-
Mayr
Steinsdorfstrasse 10
D-8000 München 22(DE)

EP 0 409 227 A2

⑳ Pyrimidin - und Purinnucleoside, ihre Herstellung und ihre pharmazeutische Verwendung.

㉑ Die Erfindung betrifft neue und bekannte Pyrimidin- und Purinnucleoside, die besonders wirksam gegen Hepatitis B-Infektionen sind und ihre Herstellung.

PYRIMIDIN- UND PURINNUCLEOSIDE, IHRE HERSTELLUNG UND IHRE PHARMAZEUTISCHE VERWENDUNG

Die Erfindung betrifft Pyrimidin- und Purinnucleoside, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als pharmazeutische Wirkstoffe bzw. Mittel zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch Hepatitis B-Viren verursachten Infektionen, insbesondere in der Humanmedizin.

Die Hepatitis B ist eine durch das Hepatitis B- virus (HBV) verursachte Infektionskrankheit, von der 5 weltweit etwa 200 Millionen Menschen betroffen sind und deren chronische Form mit einem erhöhten Risiko für ein primäres Leber-Carcinom verbunden ist, das allein in China zu etwa einer Million Tumorneuerkrankungen pro Jahr führt.

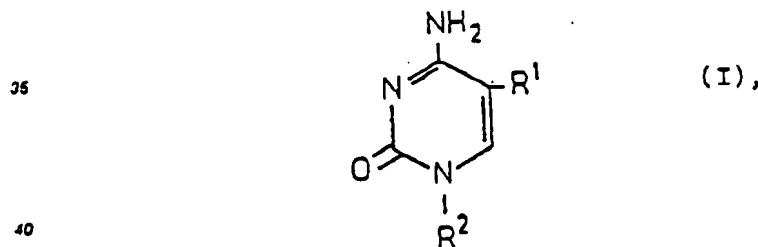
Eine wirksame und verträgliche antivirale Therapie fehlt bisher. Angriffspunkt könnte u.a. die HBV-DNA-Polymerase sein, ein Enzym, dessen Hemmung die weitere intracelluläre Virusvermehrung verhindern und damit seine Ausbreitung stoppen könnte. Die ersten klinisch erprobten Hemmstoffe der HBV-Polymerase, 10 wie z.B. Adeninarabinosid(araA) und Acyclovir (ACV), haben auch in Kombination mit Corticosteroiden oder Interferon- α nur teilweise oder vorübergehende Besserungen erbracht oder sind von Nebenwirkungen 15 begleitet (Alexander et al., British Medical Journal 292, 915 (1986), so daß die Notwendigkeit besteht, begleitet (Alexander et al., British Medical Journal 292, 915 (1986), so daß die Notwendigkeit besteht, 20 wirksamere und selektivere Arzneimittel zu entwickeln. In diese Richtung potentiell wirksamere Hemmstoffe weisen die Patentanmeldungen WO-A-88/00050, in der 3'-Fluorodesoxynucleoside von Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin als Mittel gegen Hepatitis B-Infektionen beansprucht werden, WO-A-89/01776 bezüglich der Wirksamkeit von 2'-Fluorarabinofuranosyl-5-ethyluracil gegenüber der Woodchuck-Hepatitis und EP-A-303 760, das verschiedene Purin-2',3'-didesoxynucleoside als effektive Hemmstoffe des Entenhepatitis B-Virus beschreibt.

Einige dieser Nucleoside wurden ursprünglich als Hemmstoffe der Replikation des HIV (human immunodeficiency virus, eines RNA-Virus) entdeckt, ohne daß aus der Wirksamkeit von Nucleosiden gegenüber HIV auf ihre prinzipielle Wirksamkeit gegenüber HBV (einem DNA-Virus) geschlossen werden kann, wie das im Falle von EP-A-322 384 erfolgt ist.

Die Erfindung hat die Aufgabe, neue Pyrimidin- und Purinnucleoside und ihre Herstellung anzugeben, 25 die gegen Hepatitis B wirksam sind und als pharmazeutische Mittel für die Prophylaxe und/oder Behandlung entsprechender Infektionen eingesetzt werden können, und ferner, weitere wirksame Verbindungen gegen Hepatitis B aufzuzeigen, die bei hoher Wirksamkeit und guter Verträglichkeit eine geringe Toxizität 30 aufweisen.

Die Aufgabe wird gemäß den Ansprüchen 1, 7, 8 und 9 gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen sind 35 Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Die erfindungsgemäßen neuen Verbindungen besitzen die allgemeinen Formeln I, II, III, IV und V.



worin bedeuten: R¹ CHO, NH₂, OH, SH
und

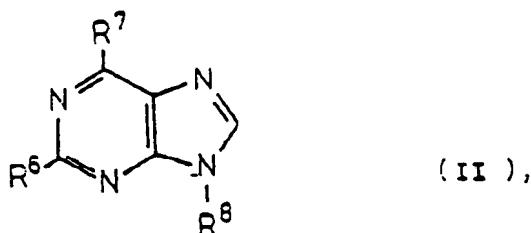


mit R³ = H, OH

R^4 = H, F, Cl, NH₂, N₃ R^5 = OH, O-Acetyl, O-Palmitoyl, O-Alkoxycarbonyl, Phosphonat, Mono-, Di-, Triphosphat bzw. andere Precursorgruppen für die 5-Hydroxygruppe.

5

10



15

worin bedeuten:
 R^6 H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-Dialkyl, insbesondere bis C₃, R^7 H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-Dialkyl, insbesondere bis C₃, R^8 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, Arabinofuranosyl 3-Fluorarabinofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl bzw. deren 5-Phosphonat 5-O-Acetyl-, 5-O-Palmitoyl-, 5-O-alkoxycarbonyl-Derivate oder deren 5-Mono-, 5-Di-, oder 5-Triphosphate (als freie Säuren oder Alkali-, Ammonium oder Alkylammoniumsalze) bzw. andere Precursorgruppen für die 5-Hydroxygruppe, mit folgenden Einschränkungen:

25

Wenn R^6 und R^7 = H, OH, NH₂,

dann ist

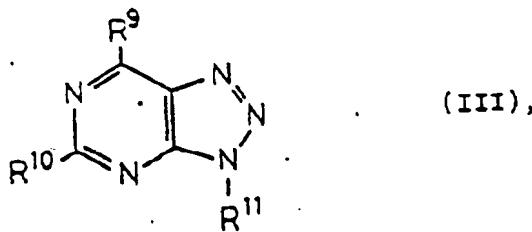
 R^8 ≠ 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, Arabinofuranosyl 3-Fluorarabinofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;oder wenn R^6 = F und R^7 = NH₂ bzw. R^6 = NH₂ und R^7 = SH, dann ist R^8 ≠ 3-Fluorarabinofuranosyl bzw. 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl,
 oder wenn R^6 = Cl und R^7 = NH₂, dann ist R^8 ≠ 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;

30

40

35

40

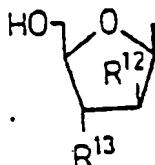


45

worin bedeuten:

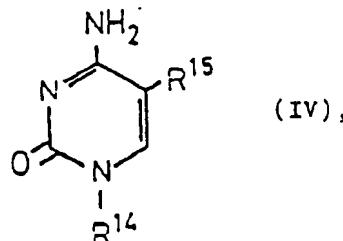
 R^9 und R^{10} H, OH, NH₂ und R^{11} 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl oder

50

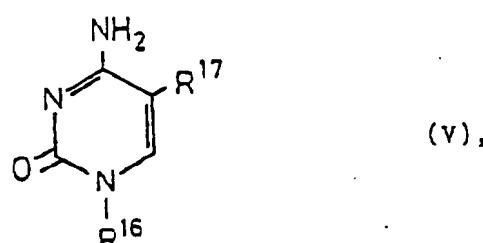


55

mit R^{12} = H, OH R^{13} = H, F, Cl, NH₂, N₃bzw. mit einer Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei R^8 ;



worin bedeuten:
 R¹⁴ 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei
 R⁸ und
 R¹⁵ F, Br, J, CH₃, CH₂OH, CH₂CH₃, CHO;



worin bedeuten:
 R¹⁶ Arabinofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl bzw. mit einer Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei R⁸, und
 R¹⁷ Cl, Br, CH₂OH, CH₂CH₃, CH=CH₂, CH=CHBr.

30 Diese Pyrimidin- und Purinnucleoside stellen Wirkstoffe gegen Virusinfektionen dar, insbesondere gegen Infektionen, wie sie durch das Hepatitis B-Virus (HBV), das Hepatitis A-Virus (HAV) und den Erreger der Non A-, Non B-Hepatitis verursacht werden. Sie können als solche sowie in Form pharmazeutischer Mittel zusammen mit geeigneten Hilfs- und/oder Trägerstoffen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von

35 Hepatitis B vorteilhaft eingesetzt werden, insbesondere in der Humanmedizin.

Als besonders wirksam erwiesen sich:
 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-formylcytidin (I),
 2',3'-Didesoxy-3'-fluorribofuranosyl-6-chlorguanin (II),
 2',3'-Didesoxy-3'-fluorribofuranosyl-8-azaguanin (III),
 40 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin (IV),
 Arabinofuranosyl-5-hydroxymethylcytosin (V).

45 Sie sind gegenüber den Verbindungen des Standes der Technik gut wirksam und weisen weniger Toxizität und Nebenwirkungen auf. Ihre Herstellung erfolgt nach an sich bekannten Verfahren.
 Zur Herstellung der Verbindungen I werden entweder 3-modifizierte 5-Methylpyrimidinnucleoside zunächst bromiert, und anschließend wird das exocyclische Brom eliminiert, oder das entsprechende 5-Bromderivat wird substituiert.

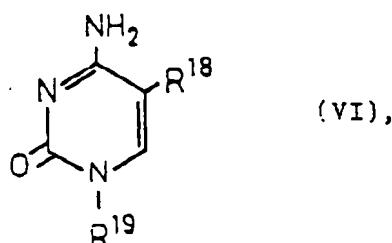
50 Die Verbindungen II und III werden aus den entsprechenden Purinen in einer Transglycosidierungsreaktion mit dem entsprechenden Zucker hergestellt, oder das entsprechende 3'-Tosylderivat wird einer Eliminierungsreaktion unterzogen.

55 Die Verbindungen IV erhält man aus den 3',5'-Di-O-mesylverbindungen, die am N⁴ geschützt sind, durch Eliminierung.
 Zur Herstellung der Verbindungen V werden das entsprechende Arabinofuranosylcytosin bzw. das 2',3'-Didesoxy-3'-aminocytidin in der 5-Position durch Halogen substituiert, oder das 5-Ethylarabinofuranosylcytosin bzw. das 2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-ethylcytidin wird durch Bromierung und nachfolgende Eliminierung abgewandelt.

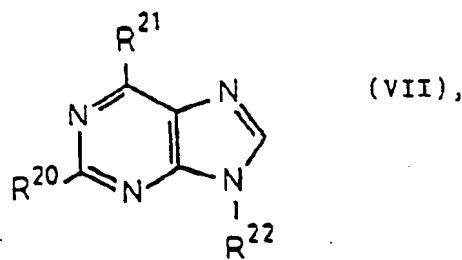
56 Eine Behandlung und/oder Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen in der Humanmedizin besteht gemäß der Erfindung in der Verabreichung einer wirksamen Menge einer oder mehrerer Verbindungen der Formeln I, II, III, IV und/oder V als solche oder in Form geeigneter Formulierungen.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel, die insbesondere zur Prophylaxe und/oder Therapie von Hepatitis-Infektionen in der Humanmedizin geeignet sind, enthalten entsprechend mindestens ein Pyrimidin- bzw. Purinnucleosid der Formeln I, II, III, IV und/oder V, wie oben definiert, als Wirkstoff neben einem oder mehreren pharmazeutisch geeigneten Hilfs- und/oder Trägerstoffen und gegebenenfalls anderen therapeutischen Mitteln oder Wirkstoffen. Die Mittel werden vorteilhaft in Form von Dosiereinheiten mit einer oder mehreren Einheitsdosen hergestellt.

Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formeln VI und VII.



20 in der bedeuten:
 R¹⁸ F, Cl, Br, J, CH₃, CH₂OH, C₂H₅ und
 R¹⁹ 2,3-Didesoxyribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 3-Fluorarabinofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸
 oder
 25 R¹⁸ F, J, CH₃ und
 R¹⁹ Arabinofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸
 oder
 30 R¹⁸ H, Cl und
 R¹⁹ 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸



45 in der bedeuten:
 R²⁰ NH₂ und R²¹ SH,
 R²⁰ NH₂ und R²¹ H
 R²⁰ NH₂ und R²¹ NH₂
 R²⁰ F und R²¹ NH₂, und
 50 R²² 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, 3-Fluorarabinofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸
 oder
 R²⁰ H und R²¹ NH₂
 R²⁰ NH₂ und R²¹ OH
 55 R²⁰ NH₂ und R²¹ NH₂, und
 R²² 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸
 oder

R²⁰ CH und R²¹ NH₂, und

R²² 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸,

zur Herstellung pharmazeutischer Mittel

zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch Hepatitis B-Viren verursachten Infektionen, insbesondere in der Humanmedizin.

5 Von besonderer Bedeutung sind dabei:

- a) Arabinofuranosyl-5-methylcytosin,
- b) 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin-5'-hydrogenphosphonat,
- c) 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin,
- d) 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-methylcytidin,
- e) 2',3'-Didesoxy-3'-aminoribofuranosylguanin,
- f) 2',3'-Didesoxy-3'-fluorarabinofuranosyl-5-methylcytosin,
- g) 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyribofuranosylguanin und
- h) 2',3'-Didesoxy-3'-fluorribofuranosyl-2,6-diaminopurin.

10 Die Herstellung der Verbindungen c), f) und h) ist in EP-A-305 114 beschrieben.

Die Verbindungen der Formeln VI und VII stellen besonders wirksame Verbindungen zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Hepatitis B-Infektionen dar.

Sie werden eingesetzt zur Herstellung entsprechender pharmazeutischer Mittel.

15 Die pharmazeutischen Mittel werden in Form von Dosiereinheiten oder Vielfachen davon hergestellt. Die eingesetzten Hilfs- und Trägerstoffe müssen verträglich, mit den anderen Bestandteilen der Mittel kompatibel und für den Patienten unschädlich sein.

Zu den erfindungsgemäßen galenischen Formulierungen bzw. Applikationsformen der pharmazeutischen Mittel gehören solche, die für die orale, rektale, nasale, topische, vaginale oder parenterale (einschließlich subkutaner, intramuskulärer, intravenöser und intradermaler) Verabreichung geeignet sind.

20 Ein bzw. mehrere Wirkstoffe werden mit dem Träger, der aus mehreren Begleitbestandteilen zusammengesetzt sein kann, in Kontakt gebracht und, falls erforderlich, in eine entsprechende galenische Form übergeführt.

Die pharmazeutischen Mittel für orale Verabreichung werden in Form von Dragees, Tabletten, Kapseln, als Pulver oder als Granulate hergestellt, die jeweils eine bestimmte Menge des Wirkstoffs enthalten.

25 Ebenso können sie als Lösungen oder als Suspensionen formuliert werden. Gegebenenfalls werden Geschmacksmittel und/oder andere übliche Additive zugesetzt.

Mittel für die rektale Verabreichung werden als Zäpfchen mit einer geeigneten Grundlage hergestellt. Arzneimittel für eine vaginale Verabreichung werden z.B. als Pessare, Tampons, Cremon, Gotic, Paston, Schäume oder Spray-Produkte formuliert.

30 Die Mittel für die parenterale Verabreichung können eine Dosiereinheit des Wirkstoffs oder das Mehrfache davon enthalten und beispielsweise in Ampullen, Phiolen oder in einem gefriergetrockneten Zustand lagerfähig gemacht sein. Unmittelbar vor Gebrauch hergestellte Injektionslösungen und Suspensions können aus sterilen Pulvern, Granulaten und Tabletten erhalten werden, z.B. durch Lösen der Substanz in physiologischer Kochsalzlösung, Glucose oder andern für die i.v.-Injektion bzw. Infusion geeigneten Medien.

35 Zur Behandlung von Patienten mit Hepatitis B-Infektionen wird beispielsweise aus 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin und physiologischer Kochsalzlösung die erforderliche Menge einer 0,3%igen Lösung hergestellt, die sterilisiert und dem Patienten innerhalb einer Stunde intravenös infundiert wird. Die Infusion wird über mindestens 8 bis 10 Tage alle 4 bis 8 Stunden wiederholt.

40 45 Die Wirksamkeit einiger der erfindungsgemäßen Verbindungen wird wie folgt belegt:

a) Hemmung der Hepatitis B Virus-Polymerase durch Nucleosidtriphosphat-Analoga

50 Das Hepatitis B Virus (HBV) besitzt eine zirkuläre, partiell doppelsträngige DNA, welche nach Infektion einer Leberzelle durch eine viruseigene Polymerase repliziert wird. Dieser Vorgang setzt jedoch die Synthese einer RNA durch eine zelluläre RNA-Polymerase voraus. Nur diese RNA-Matrize - im Zusammenhang mit der Replikation auch als Prägenom bezeichnet - kann von der HBV-Polymerase für die Synthese zunächst eines RNA-DNA Hybrids und dann der doppelsträngigen DNA benutzt werden. Damit verfügt die 55 HBV-Polymerase über eine enzymatische Aktivität, die der einer reversen Transcriptase ähnelt (Will et al., J.Virology 61, 904 (1987)). Es wurde zunächst die Hemmbarkeit der HBV-assoziierten Polymerase durch die 5'-Triphosphate der erfindungsgemäßen Verbindungen untersucht. Dazu wurde die von Kaplan et al. (J.Virology 12, 995 (1973)) angegebene Methode zur Bestimmung der HBV-Polymerase benutzt, wobei die

zu testenden Triphosphate den Ansätzen in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wurden. Die Hemmung der Enzymreaktion wurde nach 3-stündiger Inkubation bei 37 °C durch Vergleich mit einem Kontrollwert ermittelt und daraus die Konzentration der zugesetzten Analoga bestimmt, die zu einer 50 %igen Hemmung der HBV-Polymerase-Aktivität führt (ID_{50}). Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse, wobei insbesondere 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin durch einen Wert ID_{50} von 0,03 μ M herausragt und damit zu den stärksten bisher bekannten Hemmstoffen der HBV-Polymerase zu rechnen ist.

Tabelle 1

Hemmung der HBV-Polymerase-Aktivität durch Nucleosidtriphosphat-Analoga.			
	Hemmstoff	Abkürzung	ID_{50} (μ M)
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	FMtdCTP	0,03
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-ethylcytidin-5'-triphosphat	FEtdCTP	0,35
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	ddeMetCTP	0,28
	2',3'-Didesoxy-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	ddMetCTP	8
	2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	ClMetdCTP	9
	2',3'-Didesoxy-3'-azido-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	N ₃ MetdCTP	0,12
	2',3'-Didesoxy-3'-amino-5'-methylcytidin-5'-triphosphat	NH ₂ MetdCTP	26
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxycytidin-5'-triphosphat	ddCTP	2,5
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyadenosin-5'-triphosphat	ddeATP	1,8
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyguanosin-5'-triphosphat	ddeGTP	1,6
	2',3'-Didesoxy-3'-fluorguanosin-5'-triphosphat	FdGTP	0,15
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-6-thioguanosin-5'-triphosphat		0,5
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-2-aminopurinribosid-5'-triphosphat		0,6
	2',3'-Didesoxy-3'-aminoguanosin-5'-triphosphat		4,0

30

b) Wirkung der modifizierten Nucleosidtriphosphate auf die zellulären DNA-Polymerasen-alpha und -beta

Um zu prüfen, inwieweit die beschriebene Wirkung auf die HBV-Polymerase selektiv ist, d.h., die zellulären DNA-Polymerasen von einer Hemmung durch die erfindungsgemäßen Nucleosidtriphosphate ausgenommen sind, wurden die zellulären DNA-Polymerasen-alpha und -beta in die Untersuchungen einbezogen. Die Isolierung der Enzyme und deren Aktivitätsbestimmung erfolgte entsprechend der Methode von Matthes et al. (Biomed. Biochim. Acta 44, K63-K73 (1985)). Die Ergebnisse der Tabelle 2 zeigen, daß die für die Replikation der zellulären DNA zuständige DNA-Polymerase alpha weitgehend unbeeinflußt bleibt. Eine 50 %ige Hemmung dieses Enzyms wird mit Ausnahme auch bei Hemmstoffkonzentrationen > 100 μ M noch nicht erreicht, so daß die DNA-Polymerase-alpha diesen Verbindungen gegenüber als nahezu resistent anzusehen ist. Für die DNA-Polymerase-beta, die als Reparaturenzym zellulärer DNA-Schäden angesehen wird, liegen die ID_{50} -Werte zwischen 1 und > 200 μ M. Damit besitzt die beschriebene Verbindung eine hohe Wirkungsspezifität.

50

66

Tabelle 2

Wirkung der modifizierten Nucleosidtriphosphate auf die zellulären DNA-Polymerasen-alpha und -beta (ID ₅₀)			
Hemmstoff*	ID ₅₀ (μM)		DNA-Polymerase- beta
	alpha	beta	
FMetdCTP	> 200	1	
FEtdCTP	> 200	3	
ddeMetdCTP	> 200	10	
ddMetdCTP	> 200	> 100	
CIMetdCTP	> 200	100	
N ₃ MetdCTP	> 200	> 200	
NH ₂ MetdCTP	> 200	> 200	
ddeCTP	> 200	6	
ddeATP	> 100	4,5	
ddeGTP	> 150	5	
FdGTP	> 200	1,8	

* Abkürzungen siehe Tabelle 1

25

c) Cytotoxizität der modifizierten Nucleoside

30

Unter dem Aspekt einer möglichen Anwendung der Verbindungen am Menschen wurden ihre antiproliferativen Wirkungen an menschlichen Zellkulturen wie früher beschrieben getestet (E. Matthes et al. Biochem.Biophys.Res.Commun. 153, 825 (1988)). Dabei zeigte sich, daß z.B. 2',3'-Didesoxy-3-fluor-5-methylcytidin gegenüber der T-Zelllinie MT4 eine CD₅₀ von 190 μM aufweist: In einem weiteren Test, in dem eine mögliche Wachstumshemmung koloniebildender Zellen des Knochenmarks der Maus (CFU-GM) untersucht wurde (E. Matthes et al. Biochem.Biophys.Res.Commun. 165, 488 (1989)), erwies sich diese Verbindung ebenfalls als kaum proliferationshemmend (CD₅₀ > 500 μM). Die Wirkung weiterer Verbindungen auf die Proliferation von MT4-Zellen ist in Tabelle 3 zusammengefaßt.

40

45

50

55

Tabelle 3

Wirkung einiger erfindungsgemäßer Nucleosid-Analoga auf die Proliferation von MT4 Zellen. Angegeben ist die Konzentration, die nach 48 Std. zu einer 50 %igen Hemmung der Zellvermehrung führt (CD ₅₀)		
	Hemmstoff	CD ₅₀ (µM)
10	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin	190
	2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-methylcytidin	625
15	2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-methylcytidin	1,2
	2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-methylcytidin	> 500
	2',3'-Didesoxy-5-methylcytidin	110
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin	205
	2',3'-Didesoxy-3'-fluorguanosin	250
	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyadenosin	48
20	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyguanosin	155
	2',3'-Didesoxy-3'-aminoguanosin	210

25 d) Hemmung der HBsAg-Sekretion von Hep G2 (2.2.15)-Zellen

Die Testung der antiviralen Wirksamkeit der Nucleoside auf zellärer Ebene erfolgte an einer menschlichen Hepatoblastom-Zelllinie, die mit dem HBV-Genom transiziert wurde und sowohl das Oberflächenantigen des Virus (HBsAg) als auch die HBV-DNA permanent produziert und infektiöse Viruspartikel in das Medium abgibt (Hep G2-Zellen, Klon 2.2.15, Sells et al. Proc.Natl.Acad. Sci. 84, 1005 (1987)). Die Zellen (5x10⁵/ml) wurden in RPMI 1640-Medium mit 2 mM Glutamin und 10% fetalem Kälberserum allein oder zusammen mit den Nucleosid-Analoga für 4 Tage inkubiert, danach wurden den Ansätzen für 24 Stunden ³H-Thymidin bzw. ³H-Desoxyadenosin (3 µCi/ml) zugesetzt, die Zellen abzentrifugiert und darin die säureunlösliche Radioaktivität und damit der Einfluß auf die DNA-Synthese bestimmt. Im Inkubationsmedium wurde das HBsAg durch Festphasenradioimmunoassay (Travenol-Genentech Diagnostics, Cambridge, MA) entsprechend den Instruktionen des Herstellers ermittelt. Die Tabelle 4 faßt die Ergebnisse zusammen, die belegen, daß die getesteten Verbindungen hochwirksame und selektive Hemmstoffe der HBV-Vermehrung sind.

40

45

50

55

6 Tabelle 4 Einfluß einiger erfindungsgemäße r Nucleosid-
 10 Analoga auf die HBsAg-Sekretion von
 15 Hep G2 (2.2.15)-Zellen
 20 Die Mittelwerte von fünf unabhängigen Versuchen mit
 25 den Standardabweichungen sind wiedergegeben.

Nucleosid	Konz. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	(%)	3 H-DNA (dpm/Kultur)
ohne	-	19,3 \pm 2,9	100	14310 \pm 1785
2',3'-Didesoxy-3'-fluor- 5-methylcytidin	0,003 0,01 0,03 0,1 0,3 1,0 3,0	14,3 \pm 2,4 7,0 \pm 0,9 2,4 \pm 0,3 0,4 \pm 0,1 < 0,1 < 0,1 < 0,1	74 36 12 2 < 1 < 1 < 1	13270 \pm 1650 15060 \pm 1895 15580 \pm 1910 14350 \pm 1520 13175 \pm 1975 8295 \pm 1010 2470 \pm 295
2',3'-Didesoxy-3'-fluor- 5-ethylcytidin	0,003 0,01 0,03 0,1 0,3 1,0 3,0	16,7 \pm 2,6 8,2 \pm 0,8 2,6 \pm 0,6 0,6 \pm 0,1 < 0,1 < 0,1 < 0,1	87 42 13 3 < 1 < 1 < 1	14020 \pm 1780 13855 \pm 1945 14570 \pm 1695 15245 \pm 1655 14130 \pm 1940 9850 \pm 1230 6640 \pm 965
2',3'-Didesoxy-3'-chlor- 5-methylcytidin	0,003 0,01 0,03 0,1 0,3 1,0 3,0	18,5 \pm 2,6 9,6 \pm 1,2 7,1 \pm 0,8 3,4 \pm 0,4 3,2 \pm 0,5 0,4 \pm 0,1 < 0,1	96 50 37 18 17 2 < 1	13450 \pm 1465 14820 \pm 1550 14370 \pm 1620 15185 \pm 1735 13895 \pm 1540 12270 \pm 1590 10065 \pm 1855

(Tabelle 4, Fortsetzung)

	Nucleosid	Konz. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	(%)	3 H-DNA (dpm/Kultur)
10	2',3'-Dideoxy-3'-amino-S-methylcytidin	0,003 0,01 0,03	13,9 \pm 2,9 8,5 \pm 1,3 7,0 \pm 1,1	72 44 36	16020 \pm 1790 15445 \pm 1830 14180 \pm 1650
15		0,1 0,3 1,0	4,8 \pm 0,6 3,2 \pm 0,4 0,3 \pm 0,1	25 17 2	14350 \pm 1570 12160 \pm 1860 8150 \pm 1125
20		3,0	< 0,1	< 1	2100 \pm 430
	ohne	-	17,5 \pm 2,8	100	17190 \pm 1980
25	Arabinosyl-S-methyl-cytosin	0,003 0,01 0,03 0,1 0,3 1,0 3,0	16,8 \pm 1,7 12,4 \pm 1,2 10,3 \pm 1,2 3,6 \pm 0,5 0,6 \pm 0,3 < 0,1 < 0,1	96 71 59 21 3 < 1 < 1	17755 \pm 1750 17990 \pm 1635 19075 \pm 1905 16225 \pm 1825 18600 \pm 1865 12415 \pm 1070 8470 \pm 935
30					
35					
40	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxycytidin	0,003 0,01 0,03 0,1 0,3 1,0 3,0	18,7 \pm 2,8 12,1 \pm 1,6 5,8 \pm 1,2 0,8 \pm 0,2 0,4 \pm 0,2 < 0,1 < 0,1	107 69 33 5 2 < 1 < 1	17940 \pm 1865 18410 \pm 1895 15685 \pm 1740 19930 \pm 1830 14270 \pm 1655 12350 \pm 1310 6535 \pm 790
45					
50					

(Tabelle 4, Fortsetzung)

	Nucleosid	Konz. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	(%)	3 H-DNA (dpm/Kultur)
10	2'-3'-Didehydro-2',3'-didesoxyadenosin	0,003	16,9 \pm 2,6	96	19650 \pm 1935
		0,01	12,4 \pm 1,8	71	17215 \pm 1760
		0,03	4,7 \pm 0,6	27	18975 \pm 1957
		0,1	0,5 \pm 0,2	3	16230 \pm 1745
		0,3	< 0,1	< 1	19400 \pm 1926
		1,0	< 0,1	< 1	9930 \pm 1130
20		3,0	< 0,1	< 1	4265 \pm 555
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-	0,003	15,9 \pm 2,7	91	19535 \pm 1835
	2,6-diaminopurinribosid	0,01	3,2 \pm 0,6	18	16820 \pm 1775
		0,03	2,0 \pm 0,5	11	17265 \pm 1895
		0,1	< 0,1	< 1	19990 \pm 1820
		0,3	< 0,1	< 1	15125 \pm 1795
30		1,0	< 0,1	< 1	18885 \pm 1950
		3,0	< 0,1	< 1	17740 \pm 1670
	2',3'-Didesoxy-3'-fluor-	0,003	15,3 \pm 2,8	87	18940 \pm 1963
	guanosin-5'-methyl-	0,01	4,0 \pm 0,6	23	17630 \pm 1740
	phosphonat	0,03	1,9 \pm 0,5	11	16495 \pm 1855
		0,1	< 0,1	< 1	17665 \pm 1893
40		0,3	< 0,1	< 1	17920 \pm 1975
		1,0	< 0,1	< 1	15250 \pm 1640
		3,0	< 0,1	< 1	12935 \pm 1460
	1-(2,3-Didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuranosyl)-5-formylcytosin				

50 Beispiel 1

55 1-(2,3-Didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuranosyl)-5-formylcytosin

1-(5-O-Acetyl-2,3-didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuranosyl)-5-methylcytosin (0,57 g, 2 mmol) wird in 50 ml Tetrachlormethan unter Erhitzen zum Rückfluß gelöst (Photolampe, 500 W). Es werden 10 mmol Brom mit Hilfe von trockenem Stickstoff über einen Zeitraum von 6 h in die Reaktionslösung eingeleitet. Nach dem

Abkühlen werden 20 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt; die organische Phase wird abgetrennt und im Vakuum zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird in 30 ml Methanol gelöst und mit 1,5 mol Natriummethylat versetzt. Die Lösung wird 20 min unter Rückfluß erhitzt, nach dem Erkalten mit Essigsäure neutralisiert und schließlich im Vakuum eingeengt. Es wird ein glasartiger Rückstand erhalten, der säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform (10 % Methanol) gereinigt wird.

5 Massenspektrometrie: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{12}N_3O_4F$).

Beispiel 2

10

2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin

Zu einer Lösung von K-tert-butylat (0,58 g, 5 mmol) in 15 ml DMF werden 0,46 g (0,2 mmol) 1-(2'-Desoxy-3,5-epoxy- β -D-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin gegeben; das Gemisch wird 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird zur Trockne eingeengt. Der resultierende Rückstand wird in 25 ml Wasser gelöst und mit DOWEX WX8 (H⁺-Form) behandelt. Nach dem Filtrieren wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 5 ml 25%igem Methanol gelöst und an DOWEX-1 (OH-Form) 20 säulenchromatographisch getrennt. Die Elution mit 25%igem Methanol ergibt Fraktionen, aus denen nach dem Entfernen des Lösungsmittels die Zielverbindung als ein öliger Rückstand erhalten wird. Aus kaltem Ethanol (HCl) wird das entsprechende Hydrochlorid isoliert.

Massenspektrometrie: m/z 227 (M^+ , $C_9H_{10}N_3O_2F$).

25 Beispiel 3

1- β -D-Arabinofuranosyl-5-hydroxymethylcytosin

30 1,9 g (5 mmol) 1-(2,3,5-Tri-O-acetyl- β -D-arabinofuranosyl)-5-methylcytosin werden in 100 ml Tetrachlormethan durch Erhitzen zum Rückfluß (Photolampe, 500 W) gelöst. Mit Hilfe eines Stroms von trockenem Stickstoff werden 15 mmol Brom während eines Zeitraumes von 6 Std. in die Lösung eingeleitet. Nach dem Erkalten werden zum Reaktionsgemisch 50 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und zur Trockne eingeengt. Die O-Acetylgruppen werden in 35 herkömmlicher Weise mit Methanol/Ammoniak entfernt. Der nach dem Vertreiben des Lösungsmittels verbleibende Rückstand wird an Kieselgel mit Chloroform (5% Methanol) als Elutionsmittel gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen, die das Produkt enthalten, werden gesammelt, und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Aus dem Rückstand wird mit kaltem Methanol die kristalline Zielverbindung erhalten.

Massenspektrometrie: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{15}N_3O_5$).

40

Beispiel 4

1- β -D-Arabinofuranosyl-5-methylcytosin

45 1-(2,3,5-Tri-O-acetyl- β -D-arabinofuranosyl)-4-thiothymin (2 g, 5 mmol) wird in einem verschlossenen Stahlcontainer mit 50 ml flüssigem Ammoniak für zwei Tage auf 50 °C erhitzt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wird der sirupöse Rückstand an Kieselgel säulenchromatographisch mit Chloroform (15% 50 Methanol) als Elutionsmittel gereinigt. Die Titelverbindung wird als Hydrochlorid aus Methanol (HCl) erhalten.

F. 191 °C (Zers.)

Massenspektrometrie: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{15}N_3O_5$).

65

Beispiel 5

2',3'-Didesoxy-3',5-difluorcytidin

5' -O-Acetyl-2',3'-didesoxy-3',5-difluoruridin (0,12 mmol) wird in 3 ml Pyridin gelöst und mit 34,5 mg (0,5 mmol) 1,2,4-Triazol sowie mit 86 mg (0,35 mmol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch verbleibt für eine Woche bei Raumtemperatur. Anschließend werden 15 ml Dioxan und 3 ml konzentrierte Ammoniaklösung zugesetzt. Nach 24 h wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt; der verbleibende braune Rückstand wird in 3 ml Wasser gelöst und an DOWEX 50 Wx8 (H⁺-Form) getrennt. Zunächst wird mit Wasser (420 ml), anschließend mit Ammoniaklösung (3%, 400 ml) eluiert. Die ammoniakalische Lösung wird im Vakuum zur Trockne eingeengt, der Rückstand an Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt. Aus den entsprechenden Fraktionen werden 10 mg der Titelverbindung isoliert.
 F. 219 °C (Methanol)
 Massenspektrometrie: m/z 247 (M⁺, C₉H₁₁N₃O₃F₂).

15 Beispiel 8

3'-Chlor-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin

20 Eine Lösung von 5'-O-Acetyl-3'-chlor-3'-desoxy-thyminidin (6 mmol), 1,57 g (22,7 mmol) 1,2,4-Triazol und 4,4 g (17,9 mmol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid in 100 ml Pyridin wird für eine Woche bei Raumtemperatur belassen. Anschließend wird ein Gemisch von 50 ml Dioxan und 20 ml konzentrierter Ammoniaklösung hinzugefügt. Nach 24 Stunden wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch zunächst an DOWEX 50 Wx8, danach an Kieselgel gereinigt. Aus den entsprechenden Fraktionen wird 3'-Chlor-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin erhalten und nach Umwandlung in das Hydrochlorid aus Methanol umkristallisiert.
 F. 203 - 205 °C (Methanol)
 Massenspektrometrie: m/z 259 (M⁺, C₁₀H₁₄N₃O₃Cl).

25 Beispiel 7

5-Brom-3'-chlor-2',3'-didesoxycytidin

30 Die Titelverbindung wird aus 5'-O-Acetyl-5-brom-3'-chlor-2',3'-didesoxyuridin analog der in Beispiel 6 beschriebenen Methode dargestellt und als Hydrochlorid isoliert.
 Massenspektrometrie: m/z 324 (M⁺, C₉H₁₁N₃O₃BrCl).

40 Beispiel 8

2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin

45 5,5 g (11,3 mmol) 4-N-Benzoyl-2'-desoxy-3',5'-di-O-mesylcytidin werden in 350 ml Ethanol gelöst, mit 37,5 ml 1 n NaOH und 87 ml Wasser versetzt und 2 h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Lösung zur Trockne eingeengt. Der verbleibende Rückstand wird mit heißem Aceton (5 x 50 ml) extrahiert. Aus der vereinigten Acetonlösung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückbleibende gelbe Öl wird in 30 ml DMSO gelöst, dem 1,2 g (10,8 mmol) K-tert.-butylat hinzugefügt werden. Das Reaktionsgemisch verbleibt über Nacht bei Raumtemperatur und wird anschließend im Vakuum weitgehendst zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und mit Essigsäure auf pH 9 gebracht. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird das erhaltene sirupöse Material säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform (10% Methanol) als Elutionsmittel gereinigt.
 55 Massenspektrometrie: m/z 223 (M⁺, C₁₀H₁₃N₃O₃).

Beispiel 9

9-(2,3-Didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuransyl)-6-thioguanin

Zu einer Suspension von 9(5-O-Benzoyl-2-desoxy- β -D-threo-pentofuransy)-6-thioguanin (775 mg, 2 mmol) in 100 ml 1,2-Dichlorethan wird 1 ml Diethylaminoschwefeltrifluorid gegeben; das Reaktionsgemisch verbleibt 4 h unter Rühren bei Raumtemperatur. Danach wird Natriumhydrogencarbonat (1 g) hinzugefügt, nach kurzzeitigem Rühren filtriert und schließlich das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingeengt. Die säulenchromatographische Reinigung des Rückstandes an Kieselgel mit Chloroform (10% Methanol) als Elutionsmittel liefert 210 mg 5'-O-Benzoyl-2',3'-didesoxy-3'-fluor-6-thioguanosin.

Massenspektrometrie m/z 389 (M⁺, C₁₇H₁₅N₅O₃SF)

Die Benzoylgruppe wird üblicherweise mit Methanol/Ammoniak (gesättigt bei 0 °C) entfernt. Eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel liefert 88 mg der Titelverbindung.

Massenspektrometrie: m/z 285 (M⁺, C₁₆H₁₂N₅O₂SF).

15 Beispiel 10

9-(2,3-Didesoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuransyl)adenin

2'-Desoxy-3'-O-tosyl-adenosin (1 g, 2,47 mmol) wird in 5 ml DMF gelöst. Dann werden 0,54 g (10 mmol) Natriummethylat in 20 ml DMF zugesetzt, die gelbe Lösung wird 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden 200 ml Methanol hinzugefügt; Lösung wird mittels Amberlite IRC-50 (H⁺-Form) neutralisiert. Nach dem Entfernen des Austauscherharzes wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der resultierende Festkörper mehrmals mit heißem Aceton extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden auf ein Volumen von 20 ml konzentriert. Die Titelverbindung wird kristallin erhalten (0,36 g) und aus Aceton umkristallisiert.

F. 187-190 °C.

30 Beispiel 11

2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin-5'-hydrogenphosphonat

Imidazol (360 mg, 5,3 mmol) wird in 15 ml Acetonitril gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Zur Lösung werden Phosphortrichlorid (0,15 ml, 1,6 mmol) und Triethylamin (0,78 ml, 5,6 mmol) gegeben, und es wird für 15 min gerührt. Anschließend werden 0,48 g (2 mmol) 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin, gelöst in 25 ml Acetonitril, hinzugefügt; das Reaktionsgemisch verbleibt unter ständigem Rühren 5 h bei Raumtemperatur. Nach der Zugabe von 25 ml Wasser wird die Lösung im Vakuum eingeengt und mehrmals mit Pyridin/Triethylamin (3/1) codestilliert. Der schließlich erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform (10% Methanol) gereinigt.

Beispiel 12

45

Injektionslösung

Aus 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin und physiologischer Kochsalzlösung bereitet man die erforderliche Menge einer 3%-igen Lösung.

Beispiel 13

55

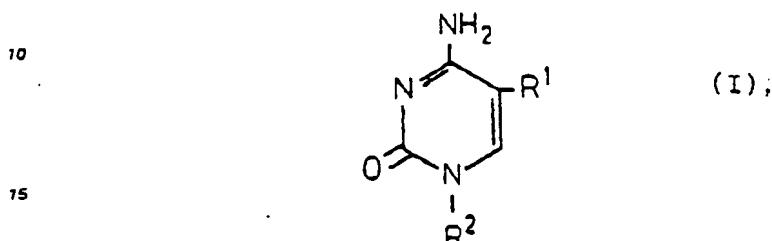
Tabletten und Dragees

Pulverisiertes 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5'-methylcytidin wird mit einem oder mehreren üblichen Trägerstoff-

fen, wie Stärke, Talk, Magnesiumstearat, Kaliumstearat, Stearinsäure, Paraffin, Cetylalkohol, Pectin, Saccharose, Gummi arabicum, Dextrin, zu Tabletten oder Dragees verarbeitet.

5 Ansprüche

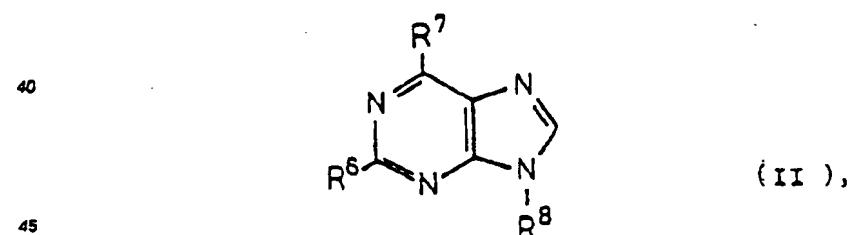
1. Pyrimidinnucleoside und Purinnucleoside der allgemeinen Formeln I, II, III, IV und V.



20 worin bedeuten:
R¹ CHO, NH₂, OH, SH
und
R²



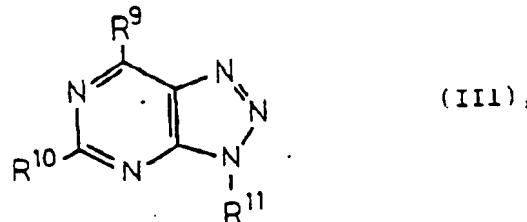
mit R³ = H, OH
R⁴ = H, F, Cl, NH₂, N₃
35 R⁵ = OH, O-Acetyl, O-Palmitoyl, O-Alkoxy carbonyl, Phosphonat, Mono-, Di-, Triphosphat bzw. andere Precursorgruppen für die 5-Hydroxygruppe,



worin bedeuten:
R⁶ H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-Dialkyl, insbesondere bis C₃,
50 R⁷ H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-Dialkyl, insbesondere bis C₃,
R⁸ 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, Arabinofuranosyl 3-Fluorarabinofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-dideoxyribofuranosyl bzw. deren 5-Phosphonat 5-O-Acetyl-, 5-O-Palmitoyl-, 5-O-alkoxycarbonyl-Derivate oder deren 5-Mono-, 5-Di-, oder 5-Triphosphate (als freie Säuren oder Alkali-, Ammonium- oder Alkylammoniumsalze) bzw. andere Precursorgruppen für die 5-Hydroxygruppe, mit folgenden Einschränkungen:
Wenn R⁶ und R⁷ = H, OH, NH₂,
dann ist
R⁸ ≠ 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuran-

10 osyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribcfuranosyl, Arabinofuranosyl, 3-Fluorarabinofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-dide-
soxyribofurancsy!;
oder wenn $R^6 = F$ und $R^7 = NH_2$ bzw. $R^6 = NH_2$ und $R^7 = SH$, dann ist $R^8 = 3$ -Fluorarabinofuranosyl bzw.
2,3-Didesoxy-3-fluorribofurancsy!;
5 oder wenn $R^6 = Cl$ und $R^7 = NH_2$, dann ist $R^8 = 2,3$ -Didesoxy-2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;

15

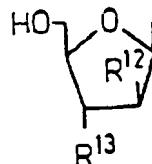


20

worin bedeuten:

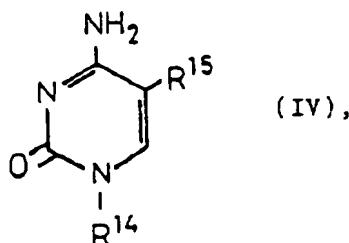
 R^9 und R^{10} H, OH, NH_2 und R^{11} 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl oder

25



35

30 mit $R^{12} = H, OH$
 $R^{13} = H, F, Cl, NH_2, N_3$
 bzw. mit einer Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei R^8 ;



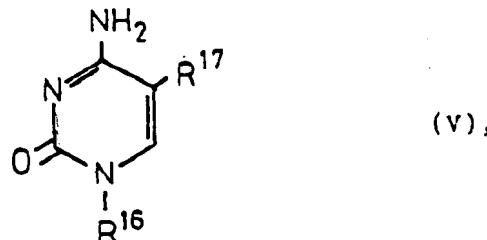
40

worin bedeuten:

45 R^{14} 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei
 R^8 und
 R^{15} F, Br, J, CH_3 , CH_2OH , CH_2CH_3 , CHO ;

50

55



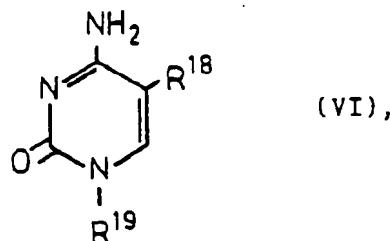
worin bedeuten:

R¹⁶ Arabino furanosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl bzw. mit einer Precursorgruppe für die 5-Hydroxygruppe wie bei R⁸, und

R¹⁷ Cl, Br, CH₂OH, CH₂CH₃, CH=CH₂, CH=CHBr.

- 6. 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-formylcytidin der Formel I.
- 7. 2',3'-Didesoxy-3'-fluorribofuranosyl-6-chlorguanin der Formel II.
- 8. 2',3'-Didesoxy-3'-fluorribofuranosyl-8-azaguanin der Formel III.
- 9. 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin der Formel IV.
- 10. Arabino furanosyl-5-hydroxymethylcytosin der Formel V.
- 11. 7. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man
 - zur Herstellung der Verbindungen der Formel I entweder 3'-modifizierte 5-Methylpyrimidinnucleoside zunächst bromiert und anschließend das exocyclische Brom eliminiert, oder das entsprechende 5-Bromderivat substituiert;
- 12. - zur Herstellung der Verbindungen der Formeln II und III die entsprechenden Purine in einer Transglycosidierungsreaktion mit dem entsprechend 3'-modifizierten Zucker versieht oder das entsprechende 3'-C-Tosylderivat einer Eliminierungsreaktion unterzieht;
- 13. - zur Herstellung der Verbindungen der Formel IV die 3',5'-Di-O-mesylverbindungen, die am N⁴ geschützt sind, einer Eliminierungsreaktion unterzieht
- 14. bzw.
 - zur Herstellung der Verbindungen der Formel V das entsprechende Arabino furanosylcytosin bzw. 2',3'-Didesoxy-3'-aminocytidin in 5-Position durch Halogen substituiert oder das 5-Ethylarabino furanosylcytosin bzw. 2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-ethylcytidin durch Bromierung und nachfolgende Eliminierung abwandelt.
- 15. 8. Pharmazeutische Mittel, insbesondere zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch Viren, insbesondere Hepatitis B-Viren, verursachten Infektionen, gekennzeichnet durch mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formeln I und/oder II und/oder III und/oder IV und/oder V nach einem der Ansprüche 1 bis 6 als Wirkstoffe neben üblichen galenischen Hilfs-, Träger- und/oder Verdünnungsmitteln.
- 16. 9. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formeln I bis V nach einem der Ansprüche 1 bis 6 und von Verbindungen der allgemeinen Formeln VI und VII.

30



35

40

in der bedeuten:

R¹⁸ F, Cl, Br, J, CH₃, CH₂OH, C₂H₅ und

R¹⁹ 2,3-Didesoxyribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 3-Fluorarabino furanosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe

45 wie bei R⁸ in Anspruch 1

oder

R¹⁸ F, J, CH³ und

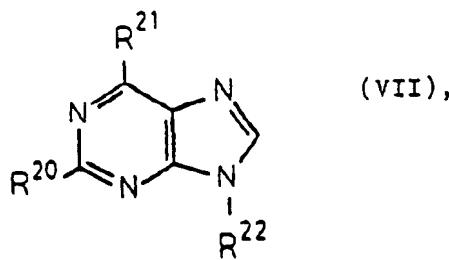
R¹⁹ Arabino furanosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸ in Anspruch 1

50 oder

R¹⁸ H, Cl und

R¹⁹ 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸ in Anspruch 1

55



in der bedeuten:

R²⁰ NH₂ und R²¹ SH,

15 R²⁰ NH₂ und R²¹ H

R²⁰ NH₂ und R²¹ NH₂

R²⁰ F und R²¹ NH₂, und

R²² 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, 3-Fluorarabinofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸ in Anspruch 1

20 oder

R²⁰ H und R²¹ NH₂

R²⁰ NH₂ und R²¹ OH

R²⁰ NH₂ und R²¹ NH₂, und

R²² 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe 25 für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸ in Anspruch 1

oder

R²⁰ CH und R²¹ NH₂, und

R²² 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl bzw. eine Precursorgruppe für die 5 Hydroxygruppe wie bei R⁸ in Anspruch 1,

30 zur Herstellung pharmazeutischer Mittel, insbesondere zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch Hepatitis B-Viren verursachten Infektionen, insbesondere in der Humanmedizin.

10. Verwendung von Arabinofuranosyl-5-methylcytosin, 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin-5'-hydrogenphosphonat, 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin, 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-methylcytidin, 2',3'-Didesoxy-1'-aminoribofuranosylguanin, 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyribofuranosylguanin, 2',3'-Didesoxy-3'-fluorarabinofuranosyl-5-methylcytosin und/oder 2',3'-Didesoxy-3'-fluorguanosinphosphonat gemäß Anspruch 9.

35

40

45

50

55

D4FC

EN1133

(10) European Patent Office

(11) Publication No.: 0 409 227 A2

(12)

EUROPEAN PATENT APPLICATION

(21) Application No.: 90113851.1

(51) Int.Cl.⁵: C07H 19/04, A61K 31/70

(22) Date of application: July 19, 1990

(30) Priority: 20.07.89 DD 331051

(71) Applicant: Akademie der
Wissenschaften der DDR
[Academy of Sciences of the
GDR]
Otto-Nuschke-Strasse 22/23
DDR-1086 Berlin (DD)(43) Publication date of the
application:January 23, 1991
Patent Gazette 91/04(72) Inventor: Matthes, Eckart, Dr.
Karower Chaussee 129

DDR-1115 Berlin (DE)

Inventor: Von Janta-
Lipinski, Martin, Dr.

Mittelweg 75

DDR-1185 Berlin (DE)

Inventor: Reimer, Karen, Dr.
Leipziger Strasse 40

DDR-1080 Berlin (DE)

Inventor: Müller, Werner,
Prof. Dr.

Semmelweisstrasse 12

D-6200 Wiesbaden (DE)

Inventor: Meisel, Helga, Dr.
Strasse 53 No. 5a

DDR-1113 Berlin (DE)

Inventor: Lehmann, Christine
Walter-Friedrich-Strasse 5

DDR-1115 Berlin (DE)

Inventor: Schildt, Jürgen
Demminer Strasse 11c

DDR-1090 Berlin (DE)

(84) Name treaty countries:

AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT
LI LU NL SE(74) Representatives: Beetz sen. -
Beetz Jr. Timpe - Siegfried - Schmitt-
Fumian-Mayr
Steinsdorfstrasse 10
D-8000 Munich 22 (DE)

(54) Pyrimidine- and purine-nucleosides, their manufacture and their pharmaceutical use.

(57) The invention concerns new and known pyrimidine- and purine-nucleosides which are particularly effective against hepatitis B infections and their manufacture.

EP 0 409 227 A2

PYRIMIDINE- AND PURINE-NUCLEOSIDES, THEIR MANUFACTURE AND THEIR PHARMACEUTICAL USE

The invention concerns pyrimidine- and purine-nucleosides, processes for their manufacture and their use as pharmaceutical active ingredients or agents, respectively, for the prophylaxis and/or treatment of infections caused by hepatitis B viruses, in particular in human medicine.

Hepatitis B is an infectious diseases caused by the hepatitis B virus (HBV), by which about 200 million are affected worldwide and the chronic form of which is connected with an increased risk of a primary hepatic carcinoma, which in China alone leads to about one million new tumor disorders per year.

An effective and well-tolerated antiviral therapy has thus far been lacking. A point of attack could be, among others, the HBV-DNA-polymerase, an enzyme whose inhibition could prevent the additional intracellular virus reproduction and thereby stop its spread. The first clinically tested inhibitors of the HBV polymerase, such as adenine arabinoside (araA) and acyclovit (ACV), even in combination with corticosteroids or interferon- α , have brought about only partial or temporary improvements or have been accompanied by side effects (Alexander et al., British Medical Journal 292, 915 (1986)), so that the necessity obtains to develop more effective and more selective medications. In this direction of potentially more effective inhibitors point the patent applications WO-A-88/00050, in which the 3'-fluorodesoxynucleosides of adenine, guanine, cytosine and thymine are claimed as a drug against hepatitis B infections, WO-A-89/01776 concerning the effectiveness of 2'-fluorarabinofuranosyl-5-ethyluracil against woodchuck hepatitis, and EP-A-303 760 which describes various purine-2',3'-didesoxy nucleosides as effective inhibitors of duck virus hepatitis B.

Some of these nucleosides were originally discovered as inhibitors of the replication of HIV (human immunodeficiency virus, an RNA virus), however no conclusions can be drawn from the effectiveness of nucleosides against HIV as to their effectiveness in principle against HBV (a DNA virus), such as has been done in the case of EP-A-322 384.

The invention has the task of disclosing new pyrimidine- and purine-nucleosides and their manufacture, which are effective against hepatitis B and which can be used as pharmaceuticals for the prophylaxis and/or treatment of corresponding infections, and moreover, disclose additional effective compounds against hepatitis B, which at high effectiveness and good tolerability display low toxicity.

The task is solved according to claims 1, 7, 8 and 9. Advantageous further developments are the subject of the subordinate claims.

The new compounds according to the invention have the general formulas I, II, III, IV and V.

[Please refer to page 2, lines 34-40 and 48-54, of the original for the drawings]
[drawing] (I),

wherein R¹ means CHO, NH₂, OH, SH

and

[drawing]

with R³ = H, OH

R^4 = H, F, Cl, NH₂, N₃

R^5 = OH, O-acetyl, O-palmitoyl, O-alkoxycarbonyl, phosphonate, mono-, di-, triphosphate or other precursor groups for the 5-hydroxy-group, respectively.

[Please refer to page 3, lines 5-13, of the original for the drawing]

[drawing] (II),

wherein:

R^6 means H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-dialkyl, particularly to C₃,

R^7 means H, OH, F, Cl, Br, NH₂, SH, N-dialkyl, particularly to C₃,

R^8 means 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-chlor-ribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, arabinofuranosyl 3-fluorarabinofuranosyl, 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or their 5-phosphonate 5-O-acetyl-, 5-O-palmitoyl-, 5-O-alkoxycarbonyl derivates or their 5-mono-, 5-di, or 5-triphosphates (as free acids or alkaline, ammonia or alkylammonia salts) or other precursor groups for the 5-hydroxy group, respectively, with the following limitations:

When R^6 and R^7 = H, OH, NH₂,

then

R^8 = 2,3-didesoxy-3-chlororibofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, arabinofuranosyl 3-fluorarabinofuranosyl, 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;

or when R^6 = F and R^7 = NH₂ or R^6 = NH₂ and R^7 = SH, then R^8 is = 3-fluorarabinofuranosyl or 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, respectively,

or when R^6 = Cl and R^7 = NH₂, then R^8 is = 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;

[Please refer to page 3, lines 34-42, of the original for the drawing]

[drawing] (III),

wherein:

R^9 and R^{10} mean H, OH, NH₂ and

R^{11} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or

[Please refer to page 3, lines 48-54, of the original for the drawing]

[drawing]

with R^{12} = H, OH

R^{13} = H, F, Cl, NH₂, N₃,

or with a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 ;

[Please refer to page 4, lines 1-8, of the original for the drawing]

[drawing] (IV).

wherein:

R^{14} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 and

R^{15} means F, Br, J, CH₃, CH₂OH, CH₂CH₃, CHO;

[Please refer to page 4, lines 17-24, of the original for the drawing]

[drawing] (V).

wherein:

R^{16} means arabinofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl or with a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 and

R^{17} means Cl, Br, CH₂OH, CH₂CH₃, CH = CH₂, CH = CHBr.

These pyrimidine- and purine nucleosides represent active ingredients against viral infections, particularly against infections such as are caused by the hepatitis B-virus (HBV), the hepatitis A-virus (HAV) and the pathogenic agents of Non A-, Non B-hepatitis. They can be advantageously used as such as well as in the form of pharmaceuticals together with suitable adjuvants and/or carrier substances in the treatment and/or prophylaxis of hepatitis B, especially in human medicine.

The following have proved particularly effective:

2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-formylcytidine (I),

2',3'-didesoxy-3'-fluororibofuranosyl-6-chloroguanine (II),

2',3'-didesoxy-3'-fluororibofuranosyl-8-azaguanine (III),

2',3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine (IV),

arabinofuranosyl-5-hydroxymethylcytosine (V).

Compared to the compounds of the state of the art, they are thoroughly effective and exhibit less toxicity and side effects. The manufacture of these compounds is done according to processes in themselves known as such.

For the manufacture of compounds I, either 3'-modified 6-methylpyrimidine nucleosides are first bromated and subsequently the exocyclic bromine is eliminated, or the respective 5-bromine derivative is substituted.

The compounds II and III are produced from the respective purines in a transglycosidation reaction with the appropriate sugar, or the respective 3'-tosyl derivative is subjected to an elimination reaction.

The compounds IV are obtained from the 3',5'-di-O-mesyl compounds, which are protected at N⁴, by elimination.

To produce the compounds V, the corresponding arabinofuranosylcytosine or the 2',3'-didesoxy-aminocytidine in the 5-position, respectively, is substituted by halogen, or the 5-ethylarabinofuranosylcytosine or the 2',3'-didesoxy-3'-amino-5-ethylcytidine, respectively, is modified by

bromation and subsequent elimination.

A treatment and/or prophylaxis of hepatitis infections in human medicine, according to the invention, consists of the administration of an effective quantity of one or more compounds of formulas I, II, III, IV and/or V as such or in the form of suitable formulations.

The pharmaceuticals, which are particularly suitable for the prophylaxis and/or therapy of hepatitis infections, contain accordingly at least one pyrimidine- or purine-nucleoside, respectively, of formulas I, II, III, IV and/or V, as defined above, as active ingredient alongside one or more pharmaceutically appropriate adjuvants and/or carrier substances and, if necessary, other therapeutic agents or active ingredients. The remedies are advantageously produced in the form of dosage units with one or more unit doses.

The invention concerns additionally the use of compounds of the general formulas VI and VII.

[Please refer to page 5, lines 9-17, of the original for the drawing]

[drawing] (VI),

wherein:

R^{18} means F, Cl, Br, J, CH_3 , CH_2OH , CH_2H_5 and

R^{19} means 2,3-didesoxyribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-chlororibofuranosyl, 3-fluorarabinofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8

or

R^{18} means F, J, CH_2 and

R^{19} means arabinofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8

or

R^{18} means H, Cl and

R^{19} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 .

[Please refer to page 5, lines 33-43, of the original for the drawing]

[drawing] (VII),

wherein:

R^{20} means NH_2 and R^{21} means SH ,

R^{20} means NH_2 and R^{21} means H

R^{20} means NH_2 and R^{21} means NH_2 ,

R^{20} means F and R^{21} means NH_2 , and

R^{22} means 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, 3-fluorarabinofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8

or

R^{20} means H and R^{21} means NH_2

R^{20} means NH_2 and R^{21} means OH

R^{20} means NH_2 and R^{21} means NH_2 , and

R^{22} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8

or

R^{20} means CH and R^{21} means NH_2 , and R^{22} means 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8

for the production of pharmaceuticals
for prophylaxis and/or treatment of infections caused by hepatitis B-viruses, particularly in human medicine.

Of particular importance in this respect are:

- a) arabinofuranosyl-5-methylcytosine,
- b) 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine-5'-hydrogen phosphonate,
- c) 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine,
- d) 2',3'-didesoxy-3'-azido-5-methylcytidine,
- e) 2',3'-didesoxy-3'-aminoribofuranosylguanine,
- f) 2',3'-didesoxy-fluorarabinofuranosyl-5-methylcytosine,
- g) 2',3'-didehydro-2',3'-didesoxyribofuranosylguanine and
- h) 2',3'-didesoxy-3'-fluororibofuranosyl-2,6-diaminopurine.

The manufacture of compounds c), f) and h) is described in EP-A-305 114.

The compounds of formulas VI and VII represent particularly effective compounds for the treatment and/or prophylaxis of hepatitis B-infections.

They are used in the production of appropriate pharmaceuticals.

The pharmaceuticals are produced in the form of dosage units or multiples thereof. The adjuvants and carrier substances must be tolerable, compatible with the other components of the remedies and harmless to the patient.

The galenic formulations and/or forms of application of the pharmaceuticals according to the invention include such that are suitable for oral, rectal, nasal, topical, vaginal or parenteral (including subcutaneous, intramuscular, intravenous and intradermal) administration. One or more active ingredients are brought in contact with the carrier, which can be comprised of several accessory components, and, if necessary, are transformed into an appropriate galenic form.

The pharmaceuticals for oral administration are produced in the form of dragées, tablets, capsules, as a powder or as granulates, which in each case contain a specific quantity of the active ingredient. They can also be formulated as solutions or as suspensions. If necessary, taste agents and/or other customary additives may be added.

Drugs for rectal administration are produced as suppositories with a suitable base. Medicaments for vaginal administration are formulated, e.g., as diaphragms, tampons, 'cremon', 'golo', 'paston', foams or spray products.

The drugs for parenteral administration can contain a dosage unit of the active ingredient or a multiple of it and be made suitable for storing, e.g., in ampoules, vials or in a freeze-dried state. Injection solutions and suspensions prepared immediately prior to use can be obtained from sterile powders, granulates and tablets, e.g., by dissolving the substance in a physiological sodium chloride solution, glucose or other media suitable for i.v. injection or infusion.

For the treatment of patients with hepatitis B infections, the required quantity of a 0.3% solutions is prepared, e.g., from 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine and physiological sodium chloride solution,

which is sterilized and infused intravenously in the patient within one hour. The infusion is repeated every 4 to 8 hours for at least 8 to 10 days.

The effectiveness of several of the compounds of the invention is substantiated as follows:

a) Inhibition of hepatitis B virus polymerase by nucleoside phosphate analogues

The hepatitis B virus (HBV) has a circular, partially double-stranded DNA, which after infection of a liver cell is replicated by a polymerase peculiar to the virus. However, this process assumes the synthesis of an RNA by a cellular RNA-polymerase. Only this RNA matrix - in connection with the replication also called a praegenom - can be used by the HBV-polymerase for the synthesis of, first, an RNA-DNA hybrid and then of the double-stranded DNA. The HBV-polymerase possesses thereby an enzymatic activity which is similar to a reverse transcriptase (Will et al., J. Virology 61, 904 [1987]). At first, the ability to inhibit the HBV-associated polymerase by the 5'-triphosphates of the compounds of the invention was examined. For this, the method to determine the HBV polymerase as stated by Kaplan et al. (J. Virology 12, 995 [1973]) was used, for which the triphosphates to be tested were added

to the preparations in different concentration. The inhibition of the enzyme reaction was determined after 3 hours of incubation at 37°C by comparison against a control value and from it the concentration of the added analogues was determined, which leads to a 50% inhibition of the HBV-polymerase activity (ID_{50}). Table 1 shows the results with 2',3'-didesoxy-3'-fluor-6-methylcytidine standing out with an ID_{50} value of 0.03 μ M and thus having to be counted among the strongest inhibitors of the HBV polymerase thus far known.

Table 1

Inhibition of the HBV polymerase activity by nucleoside triphosphate analogues.

Inhibitor	Abbreviation	ID_{50} (μ M)
2',3'-didesoxy-3'-fluor-6-methylcytidine-5'-triphosphate	FMetdCTP	0.03
2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-ethylcytidine-5'-triphosphate	FEtdCTP	0.35
2',3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine-5'-triphosphate	ddeMetCTP	0.28
2',3'-didesoxy-5-methylcytidine-5'-triphosphate	ddMetCTP	8
2',3'-didesoxy-3'-chlor-5-methylcytidine-5'-triphosphate	ClMetdCTP	9
2',3'-didesoxy-3'-azido-5-methylcytidine-5'-triphosphate	N ₃ MetdCTP	0.12
2',3'-didesoxy-3'-amino-5-methylcytidine-5'-triphosphate	NH ₂ MetdCTP	26
2',3'-didehydro-2',3'-didesoxycytidine-5'-triphosphate	ddeCTP	2.5
2',3'-didehydro-2',3'-didesoxyadenosine-5'-triphosphate	ddeATP	1.8
2',3'-didehydro-2',3'-didesoxyguanosine-5'-triphosphate	ddeGTP	1.6
2',3'-didesoxy-3'-fluoroguanosine-5'-triphosphate	FdGTP	0.15
2',3'-didesoxy-3'-fluor-6-thioguanosine-5'-triphosphate		0.5
2',3'-didesoxy-3'-fluor-2-aminopurineriboside-5'-triphosphate		0.6
2',3'-didesoxy-3'-aminoguanosine-5'-triphosphate		4.0

b) Effectiveness of the modified nucleoside triphosphates on cellular DNA polymerase alpha and beta

In order to check the extent to which the described effect on the HBV polymerase is selective, i.e., the cellular DNA polymerases are excluded from an inhibition by the nucleoside phosphates of the invention, the cellular DNA polymerases alpha and beta were included in the studies. The isolation of the enzymes and the determination of their activity was done according to the method of Matthes et al (Biomed. Biochim. Acta 44, K63-K73 [1985]). The results in table 2 show that DNA polymerase alpha responsible for the replication of the cellular DNA remains to a large extent unaffected. A 50% inhibition of this enzyme is exceptionally not yet attained even at inhibitor concentrations $> 100 \mu$ M, so that the DNA polymerase alpha has to be considered to be almost resistant to these compounds.

For the DNA polymerase beta, which is regarded as repair enzyme of cellular DNA damage, the ID_{50} -values lie between 1 and $> 200 \mu$ M. The described compound thus has a high effective specificity.

Table 2

Effect of the modified
nucleoside phosphates on the
cellular DNA polymerases alpha
and beta (ID_{50})

Inhibitor	ID_{50} (μ M)	
	alpha	beta
PMetdCTP	> 200	1
FEtdCTP	> 200	3
ddeMetdCTP	> 200	10
ddMetdCTP	> 200	> 100
CMetdCTP	> 200	100
N ₃ MetdCTP	> 200	> 200
NH ₂ MetdCTP	> 200	> 200
ddeCTP	> 200	6
ddeATP	> 100	4.5
ddeGTP	> 150	5
FdGTP	> 200	1.8

* Abbreviations see Table 1

c) Cytotoxicity of the modified nucleosides

Under the aspect of a possible application of the compounds in humans, their antiproliferative effects were tested on human cell cultures as previously described (E. Matthes et al, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153, 825 [1988]). It became apparent that, e.g., 2',3'-didesoxy-3-fluor-5-methylcytidine shows a CD_{50} of 190 μ M towards the T-cell line MT4. In an additional test, in which a possible growth inhibition of colony forming cells of the bone marrow of the mouse (CFU-GM) was examined (E. Matthes et al, Biochem. Biophys. Res. Commun. 165, 488 [1989]), this compound also proved as hardly proliferation-inhibiting ($CD_{50} > 500 \mu$ M). The effect of additional compounds on the proliferation of MT4-cells is summarized in Table 3.

Table 3

Effect of several nucleoside analogues of the invention on the proliferation of MT4-cells. Shown is the concentration which after 48 hours leads to a 50% inhibition of cell proliferation (CD ₅₀)	
Inhibitor	CD ₅₀ (μ M)
2'3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine	190
2'3'-didesoxy-3'-chlor-5-methylcytidine	625
2'3'-didesoxy-3'-amino-5-methylcytidine	1.2
2'3'-didesoxy-3'-azido-5-methylcytidine	> 500
2'3'-didesoxy-5-methylcytidine	110
2'3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine	205
2'3'-didesoxy-3'-fluoroguanosine	250
2'3'-didehydro-2',3'-didesoxyadenosine	48
2'3'-didehydro-2',3'-didesoxyguanosine	155
2'3'-didesoxy-3'-aminoguanosine	210

d) Inhibition of the HBsAg secretion of Hep G2 (2.2.15) cells

The testing of the antiviral effectiveness of the nucleosides on a cellular level was performed on a human hepatoblastoma cell line, which was transfixed with the HBV genome and permanently produces both the surface antigen of the virus (HBsAg) and the HBV DNA and releases infectious virus particles into the medium (Hep G2 cells, Klon 2.2.15, Sells et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 84, 1005 [1987]). The cells (5×10^5 /ml) were incubated in RPMI 1640-medium with 2 mM glutamine and 10% fetal calves' serum alone or together with the nucleoside analogues for 4 days, whereupon 3 H-thymidine or 3 H-dideoxyadenosine (3 μ Cl/ml), respectively, were added to the preparation for 24 hours, the cells were centrifuged off and the acid insoluble radioactivity and thus the effect on the DNA synthesis were determined. The HBsAg was determined in the incubation medium by the solid phase radioimmunoassay (Travenol-Genentech Diagnostics, Cambridge, MA) according to the instructions of the manufacturer. Table 4 summarizes the results which substantiate that the compounds tested are highly effective and selective inhibitors of HBV proliferation.

Table 4

Influence of several nucleoside analogues on the HBsAg-secretion of Hep G2 (2.2.15) cells
 The median values of five independent tests are reproduced together with the standard deviations.

Nucleoside	Conc. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	(%)	3 H-DNA (dpm/culture)
without	-	19.3 \pm 2.9	100	14310 \pm 1785
2',3'-didesoxy-3'-fluor- 5-methylcytidine	0.003	14.3 \pm 2.4	74	13270 \pm 1650
	0.01	7.0 \pm 0.9	36	15060 \pm 1895
	0.03	2.4 \pm 0.3	12	15580 \pm 1910
	0.1	0.4 \pm 0.1	2	14350 \pm 1520
	0.3	< 0.1	< 1	13175 \pm 1975
	1.0	< 0.1	< 1	8295 \pm 1010
	3.0	< 0.1	< 1	2470 \pm 295
2',3'-didesoxy-3'-fluor- 5-ethylcytidine	0.003	16.7 \pm 2.6	87	14020 \pm 1780
	0.01	8.2 \pm 0.8	42	13855 \pm 1945
	0.03	2.6 \pm 0.6	13	14570 \pm 1695
	0.1	0.6 \pm 0.1	3	15245 \pm 1655
	0.3	< 0.1	< 1	14130 \pm 1940
	1.0	< 0.1	< 1	9850 \pm 1230
	3.0	< 0.1	< 1	6640 \pm 965
2',3'-didesoxy-3'-chlor- 5-methylcytidine	0.003	18.5 \pm 2.6	96	13450 \pm 1465
	0.01	9.6 \pm 1.2	50	14820 \pm 1550
	0.03	7.1 \pm 0.8	37	14370 \pm 1620
	0.1	3.4 \pm 0.4	18	15185 \pm 1735
	0.3	3.2 \pm 0.5	17	13895 \pm 1540
	1.0	0.4 \pm 0.1	2	12270 \pm 1590
	3.0	< 0.1	< 1	10065 \pm 1855

(Table 4, continued)

Nucleoside	Conc. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	3 H-DNA (%)	3 H-DNA (dpm/culture)
2',3'-didesoxy-3'-amino-5-methylcytidine	0.003	13.9 \pm 2.9	72	16020 \pm 1790
	0.01	8.5 \pm 1.3	44	15445 \pm 1830
	0.03	7.0 \pm 1.1	36	14180 \pm 1650
	0.1	4.8 \pm 0.6	25	14350 \pm 1570
	0.3	3.2 \pm 0.4	17	12160 \pm 1860
	1.0	0.3 \pm 0.1	2	8150 \pm 1125
	3.0	< 0.1	< 1	2100 \pm 430
without		17.5 \pm 2.8	100	17190 \pm 1980
Arabinosyl-5-methyl-cytosine	0.003	16.8 \pm 1.7	96	17755 \pm 1750
	0.01	12.4 \pm 1.2	71	17990 \pm 1635
	0.03	10.3 \pm 1.2	59	19075 \pm 1905
	0.01	3.6 \pm 0.5	21	16225 \pm 1825
	0.3	0.6 \pm 0.3	3	18600 \pm 1865
	1.0	< 0.1	< 1	12415 \pm 1070
	3.0	< 0.1	< 1	8470 \pm 935
2',3'-didehydro-2'3'-didesoxycytidine	0.003	18.7 \pm 2.8	107	17940 \pm 1865
	0.01	12.1 \pm 1.6	69	18410 \pm 1895
	0.03	5.8 \pm 1.2	33	15685 \pm 1740
	0.1	0.8 \pm 0.2	5	19930 \pm 1830
	0.3	0.4 \pm 0.2	2	14270 \pm 1655
	1.0	< 0.1	< 1	12350 \pm 1310
	3.0	< 0.1	< 1	6535 \pm 790

(Table 4, continued)

Nucleoside	Conc. (μ M)	HBsAg (ng/ml)	3 H-DNA (dpm/culture)
2',3'-didehydro-2',3'-didesoxyadenosine	0.003	16.9 \pm 2.6	96 19650 \pm 1935
	0.01	12.4 \pm 1.8	71 17215 \pm 1760
	0.03	4.7 \pm 0.6	27 18975 \pm 1957
	0.1	0.5 \pm 0.2	3 16230 \pm 1745
	0.3	< 0.1	< 1 19400 \pm 1926
	1.0	< 0.1	< 1 9930 \pm 1130
	3.0	< 0.1	< 1 4265 \pm 555
2',3'-didesoxy-3'-fluor-2,6-diaminopurine riboside	0.003	15.9 \pm 2.7	91 19535 \pm 1835
	0.01	3.2 \pm 0.6	18 16820 \pm 1775
	0.03	2.0 \pm 0.5	11 17265 \pm 1895
	0.1	< 0.1	< 1 19990 \pm 1820
	0.3	< 0.1	< 1 15125 \pm 1795
	1.0	< 0.1	< 1 18885 \pm 1950
	3.0	< 0.1	< 1 17740 \pm 1670
2',3'-didesoxy-3'-fluoro-guanosine-5'-methyl-phosphonate	0.003	15.3 \pm 2.8	87 18940 \pm 1963
	0.01	4.0 \pm 0.6	23 17630 \pm 1740
	0.03	1.9 \pm 0.5	11 16495 \pm 1855
	0.1	< 0.1	< 1 17665 \pm 1893
	0.3	< 0.1	< 1 17920 \pm 1975
	1.0	< 0.1	< 1 15250 \pm 1640
	3.0	< 0.1	< 1 12935 \pm 1460

Example 1

1-(2,3-didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuranosyl)-5-Formylcytosine

1-(5-O-acetyl-2,3-didesoxy-3-fluor- β -D-ribofuranosyl)-5-methyl-cytosine (0.57 g, 2 mmol) is dissolved in 50 ml tetrachloromethane to return flow under heating (photo lamp, 500W). 10 mmol bromine are introduced into the reaction solution with the aid of dry nitrogen over a period of 6 hours.

After cooling, 20 ml of a saturated sodium hydrogen carbonate solution are added; the organic phase is separated and in vacuum concentrated to dryness. The residue is dissolved in 30 ml methanol and mixed with 1.5 mol sodium methylate. The solution is heated for 20 minutes under return flow, neutralized with acetic acid after cooling, and is finally concentrated in vacuum. A vitreous residue is obtained, which is cleaned by column chromatography on silica gel with chloroform (10% methanol).

Mass spectrometry: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{12}N_3O_4F$).

Example 2

2',3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-fluorocytosine

To a solution of K-tert-butylate (0.58 g, 5 mmol) in 15 ml DMF there are added 0.46 g (0.2 mmol) 1-(2-desoxy-3,5-epoxy- β -D-threo-pentofuranosyl)-5-fluorocytosine; the mixture is stirred for 5 hours at ambient temperature. Subsequently it is concentrated to dryness. The resulting residue is dissolved in 25 ml water and treated with DOWEX WX8 (H^+ -form). After filtering the solvent is removed in vacuum. The residue is dissolved in 5 ml 25% methanol and separated column chromatologically at DOWEX-1 (OH-form). The elution with 25% methanol yields fractions from which after removal of the solvent the target compound is obtained as an oily residue. The relevant hydrochloride is isolated from cold ethanol (HCl).

Mass spectrometry: m/z 227 (M^+ , $C_9H_{10}N_2O_3F$).

Example 3

1- β -D-arabinofuranosyl-5-hydroxymethylcytosine

1.9 g (5 mmol) 1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-arabinofuranosyl)-5-methylcytosine are dissolved in 100 ml tetrachloromethane for return flow by heating (photo lamp, 500 W). With the aid of a stream of dry nitrogen, 15 mmol bromine are introduced into the solution over a period of 6 hours. After cooling, 50 ml of a saturated sodium hydrogen carbonate solution are added to the reaction mixture. The organic phase is separated and concentrated to dryness. The O-acetyl groups are removed in the conventional manner with methanol/ammonia. The residue remaining after the expulsion of the solvent is cleaned on silicon gel with chloroform (5% methanol) as elution agent. The relevant fractions containing the product are collected and the solvent is removed in vacuum. From the residue the crystalline target compound is obtained with cold methanol.

Mass spectrometry: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{15}N_3O_5$).

Example 4

1- β -D-arabinofuranosyl-5-methylcytosine

1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-arabinofuranosyl)-4-thiothymine (2 g, 5 mmol) is heated in a steel container to 50°C for two days with 50 ml liquid ammonia. After the solvent is evaporated, the syrup is cleaned column chromatographically on silica gel with chloroform (15% methanol) as elution agent. The title compound is obtained as hydrochloride from methanol (HCl).

Melting point 191°C (decomposition)

Mass spectrometry: m/z 257 (M^+ , $C_{10}H_{15}N_3O_5$).

Example 52',3'-didesoxy-3',5-difluorocytidine

5'-O-acetyl-2',3'-didesoxy-3',5-difluorouridine (0.12 mmol) is dissolved in 3 ml pyridine and compounded with 34.5 mg (0.5 mmol) 1,2,4-triazole as well as with 86 mg (0.35 mmol) p-chlorophenoxy phosphoric dichloride. The reaction mixture remains for one week at ambient temperature. Subsequently, 15 ml dioxan and 3 ml concentrated ammonia solution are admixed. After 24 hours, the solvent is removed in vacuum; the remaining brown residue is dissolved in 3 ml water and separated at DOWEX 50 Wx8 (H^+ -form). Next, it is eluted with water (420 ml), then with ammonia solution (3%, 400 ml). The ammoniacal solution is concentrated in vacuum to dryness, the residue is cleaned column chromatographically on silica gel. 10 mg of the title compound are isolated from the relevant fractions.

Melting point 219°C (methanol)

Mass spectrometry: m/z 247 (M^+ , $C_9H_{11}N_3O_3F_2$).

Example 63'-chlor-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine

A solution of 5'-O-acetyl-3'-chlor-3'-desoxy-thymidine (6 mmol), 1.57 g (22.7 mmol) 1,2,4-triazole and 4.4 g (17.9 mmol) p-chlorophenoxy phosphoric dichloride are left in 100 ml pyridine for one week at ambient temperature. Subsequently, a mixture of 50 ml dioxan and 20 ml concentrated ammonia solution is added. The solvent is removed after 24 hours and the residue is cleaned column chromatographically first at DOWEX 50 Wx8, then on silica gel. 3'-chlor-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine is obtained from the relevant fractions and after conversion into hydrochloride from methanol, it is recrystallized.

Melting point 203-205°C (methanol)

Mass spectrometry: m/z 259 (M^+ , $C_{10}H_{14}N_2O_2Cl$).

Example 75-bromine-3'-chlor-2',3'-didesoxycytidine

The title compound is obtained from 5'-O-acetyl-5-bromine-3'-chlor-2',3'-didesoxy-uridine analogously to the method described in example 6 and is isolated as hydrochloride.

Mass spectrometry: m/z 324 (M^+ , $C_9H_{11}N_3O_3BrCl$).

Example 82',3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine

5.5 g (11.3 mmol) 4-N-benzoyl-2'-desoxy-3',5'-di-O-mesylcytidine are dissolved in 350 ml ethanol, compounded with 37.5 ml 1 n NaOH and 87 ml water and heated for 2 hours under return flow. After cooling, the solution is concentrated to dryness. The remaining residue is extracted with hot acetone (5 x 50 ml). The solvent is removed from the combined acetone solution in vacuum. The remaining yellow oil is dissolved in 30 ml DMSO, to which are added 1.2 g (10.8 mmol) K-tert.-butylate. The reaction

mixture remains overnight at ambient temperature and is then concentrated in vacuum to dryness to a large extent. The residue is dissolved in water and with acetic acid brought to pH 9. After removal of the solvent, the obtained syrupy material is cleaned column chromatographically on silica gel with chloroform (10% methanol) as elution agent.

Mass spectrometry: m/z 223 (M^+ , $C_{10}H_{13}N_1O_3$).

Example 9**9-(2,3-didesoxy-3-fluor-β-ribofuranosyl)-6-thioguanine**

1 ml diethylamino sulfur trifluoride is added to a suspension of 9(5-O-benzoyl-2-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)-6-thioguanine (775 mg, 2 mmol) in 100 ml 1,2-dichloro ethane; the reaction mixture remains for 4 hours under agitation at ambient temperature. Sodium hydrogen carbonate (1 g) is then added; after brief agitation, it is filtered and the filtrate is concentrated in vacuum to dryness. The column chromatographical cleaning of the residue on silica gel with chloroform (10% methanol) as elution agent yields 210 mg 5'-O-benzoyl-2',3'-didesoxy-3'-fluor-6-thioguanine.

Mass spectrometry: m/z 389 (M⁺, C₁₇H₁₅N₅O₂SF).

The benzoyl is customarily removed with methanol/ammonia (saturated at 0°C). A column chromatographical cleaning on silica gel yields 88 mg of the title compound.

Mass spectrometry: m/z 285 (M⁺, C₁₀H₁₂N₅O₂SF).

Example 10**9-(2,3-didesoxy-β-D-glycero-pent-2-enofuranosyl)adenine**

2'-desoxy-3-O-tosyl-adenosine (1 g, 2.47 mmol) is dissolved in 6 ml DMF. 0.54 g (10 mmol) sodium methylate in 20 ml DMF are then added, the yellow solution is agitated for 45 minutes at ambient temperature. Subsequently, 200 ml methanol are added. The solution is neutralized by means of Amberlite IRC-50 (H⁺-form). After removal of the ion exchange resin, the solvent is removed in vacuum and the resulting solid is extracted repeatedly with hot acetone. The combined extracts are concentrated to a volume of 20 ml. The title compound is obtained in crystalline form (0.36 g) and recrystallized from acetone.

Melting point 187-190°C.

Example 11**2'3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine-5'-hydrogen phosphonate**

Imidazole (360 mg, 5.3 mmol) is dissolved in 15 ml acetonitrile and cooled in an ice bath to 0°C. Phosphor trichloride (0.15 ml, 1.6 mmol) and triethylamine (0.78 ml, 5.6 mmol) are added to the solution, and it is agitated for 15 minutes. Subsequently 0.48 g (2 mmol) 2'3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine, dissolved in 25 ml acetonitrile, are added; the reaction mixture remains for 5 hours at ambient temperature, under constant agitation. After 25 ml water are added, the solution is concentrated in vacuum and repeatedly co-distilled with pyridine/ triethylamine (3/1). The finally obtained residue is cleaned column chromatologically on silica gel with chloroform (10% methanol).

Example 12**Injection solution**

The required quantity of a 3% solution is prepared from 2'3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine and physiological sodium chloride solution.

Example 13**Tablets and dragées**

Powdered 2'3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine is processed into tablets and dragées with one or several customary carrier substances, such as starch, talcum, magnesium stearate, potassium stearate,

stearic acid, paraffin, cetyl alcohol, pectin, saccharose, gum arabic, dextrin.

Claims

1. Pyrimidine nucleosides and purine nucleosides of the general formulas I, II, III, IV and V,

[Please refer to page 16, lines 9-17 and 25-30, of the original for the drawings]
[drawing] (I),

wherein:

R^1 means CHO , NH_2 , OH , SH

and

R^2

[drawing]

with $R^3 = H, OH$

$R^4 = H, F, Cl, NH_2, N$,

$R^5 = OH, O$ -acetyl, O -palmitoyl, O -alkoxycarbonyl, phosphonate, mono-, di-, triphosphate or other precursor groups for the 5-hydroxy-group, respectively,

[Please refer to page 16, lines 37-45, of the original for the drawing]

[drawing] (II),

wherein:

R^6 means $H, OH, F, Cl, Br, NH_2, SH, N$ -dialkyl, particularly to C_3 ,

R^7 means $H, OH, F, Cl, Br, NH_2, SH, N$ -dialkyl, particularly to C_3 ,

R^8 means 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-chlor-ribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, arabinofuranosyl 3-fluorarabinofuranosyl, 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or their 5-phosphonate 5-O-acetyl-, 5-O-palmitoyl-, 5-O-alkoxycarbonyl derivates or their 5-mono-, 5-di, or 5-triphosphates (as free acids or alkaline, ammonia or alkylammonium salts) or other precursor groups for the 5-hydroxy group, respectively, with the following limitations:

When R^6 and $R^7 = H, OH, NH_2$,

then

R^8 is * 2,3-didesoxy-3-chlororibofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, arabinofuranosyl 3-fluorarabinofuranosyl, 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;
or when R^6 = F and R^7 = NH_2 or R^6 = NH_2 and R^7 = SH, then R^8 is * 3-fluorarabinofuranosyl or 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, respectively,
or when R^6 = Cl and R^7 = NH_2 , then R^8 is * 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl;

[Please refer to page 17, lines 7-15, of the original for the drawing]

[drawing] (III).

wherein:

R^9 and R^{10} mean H, OH, NH_2 and
 R^{11} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or

[Please refer to page 17, lines 22-27, of the original for the drawing]

[drawing]

with R^{12} = H, OH

R^{13} = H, F, Cl, NH_2 , N_3 ,

or with a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 ;

[Please refer to page 17, lines 34-42, of the original for the drawing]

[drawing] (IV)

wherein:

R^{14} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group.

respectively, as in R^8 and

R^{15} means F, Br, J, CH_3 , CH_2OH , CH_2CH_3 , CHO;

[Please refer to page 17, lines 49-57, of the original for the drawing]

[drawing] (V).

wherein:

R¹⁶ means arabinofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl or with a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R⁸ and
 R¹⁷ means Cl, Br, CH₂OH, CH₂CH₃, CH = CH₂, CH = CHBr.

2. 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-formylcytidine of formula I.
3. 2',3'-didesoxy-3'-fluororibofuranosyl-6-chlorguanine of formula II.
4. 2',3'-didesoxy-3'-fluororibofuranosyl-8-azaguanine of formula III.
5. 2',3'-didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidine of formula IV.
6. Arabinofuranosyl-5-hydroxymethylcytosine of formula V.

7. Process for the manufacture of the compounds according to one of claims 1 through 6, characterized therein that

- for the manufacture of the compounds of formula I either 3'-modified 5-methylpyrimidine nucleosides are first bromated and the exocyclic bromine is subsequently eliminated, or the respective 5-bromine derivative is substituted;

- for the manufacture of the compounds of formulas II and III, the respective purines are provided in a transglycosidng reaction with the appropriate 3'-modified sugar, or the respective 3'-O-tosyl derivative is subjected to an elimination reaction;

- for the manufacture of the compounds of formula IV, the 3',5'-di-O-mesyl compounds, which are protected at N⁴, are subjected to an elimination reaction,

or

- for the manufacture of the compounds of formula V, the corresponding arabinofuranosylcytosine or the 2',3'-didesoxy-aminocytidine in the 5-position, respectively, is substituted by halogen, or the 5-ethylarabinofuranosylcytosine or the 2',3'-didesoxy-3'-amino-5-ethylcytidine, respectively, is modified by bromation and subsequent elimination.

8. Pharmaceuticals, particularly for the prophylaxis and/or therapy of infections caused by viruses, particularly hepatitis B-viruses, characterized by at least one compound of the general formulas I and/or II and/or III and/or IV and/or V according to one of claims 1 through 6 serving as active ingredients alongside the customary galenic adjuvants, carrier substances and/or diluents.

9. Use of the compounds of the general formulas I through V according to one of claims 1 through 6 and of compounds of the general formulas VI and VII.

[Please refer to page 18, lines 31-39, of the original for the drawing]

[drawing]

(VI).

wherein:

R¹⁸ means F, Cl, Br, J, CH₃, CH₂OH, CH₂H₅ and

R¹⁹ means 2,3-didesoxyribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-chlororibofuranosyl, 3-fluorarabinofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R⁸ in claim 1

or

R¹⁸ means F, J, CH³ and

R¹⁹ means arabinofuranosyl, 2,3-didesoxy-3-aminofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R⁸ in claim 1

OR

R^{18} means H, Cl and

R^{19} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group,
respectively, as in R^8 in claim 1.

[Please refer to page 19, lines 3-10, of the original for the drawing]

[drawing]

(VII).

wherein:

R^{20} means NH_2 and R^{21} means SH_1

R^{20} means NH_2 and R^{21} means H

R^{20} means NH_2 and R^{21} means NH_2

R^{20} means F and R^{21} means NH_2 , and

R^{22} means 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl, 3-fluorarabinofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 in claim 1

or

R^{20} means H and R^{21} means NH_2

R^{20} means NH_2 and R^{21} means OH

R^{20} means NH_2 and R^{21} means NH_2 , and

R^{22} means 2,3-didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl 2,3-didesoxy-3-aminoribofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 in claim 1

or

R^{20} means CH and R^{21} means NH_2 , and

R^{22} means 2,3-didesoxy-3-fluororibofuranosyl or a precursor group for the 5-hydroxy group, respectively, as in R^8 in claim 1, for the manufacture of pharmaceuticals, particularly for the prophylaxis and/or treatment of infections caused by hepatitis B viruses, particularly in human medicine.

10. Use of arabinofuranosyl-5-methylcytosine, 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine-5'-hydrogen phosphonate, 2',3'-didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidine, 2',3'-didesoxy-3'-azido-5-methylcytidine, 2',3'-didesoxy-1'-aminoribofuranosylguanine, 2'3'-didehydro-2',3'-didesoxyribofuranosylguanine, 2'3'-didesoxy-3'-fluorarabinofuranosyl-5-methylcytosine and/or 2',3'-didesoxy-3'-fluorguanosine phosphonate according to claim 8.